フルスキャンGC/MSによる対象外農薬のスクリーニング分析における生産性の向上 ー従来のGC及びGC/MS（SIM）による各50分の分析時間を15分に短縮

アプリケーション

食品安全性

著者

Chin-Kai Meng and Mike Szelewski
Agilent Technologies
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808

要旨

果物および野菜の農薬分析では、複雑なマトリックスから微量の残留物を検出する必要があります。これまで、一般的に感度と確認はトレードオフの関係にあると言われていました。したがって、GC/MSまたは元素選択型検出を備えたGCと組み合わせたGC/MSを使用したスクリーニングと結果確認には、複数回の注入が必要でした。キャピラリ・フロー3ウェイスプリッタ、微量イオン検出、デコンボリューションなどのハードウェアおよびソフトウェアのツールを導入することにより、15分の高速分析で、従来の50分の3回の注入から得られる結果と同等の結果が得られます。複数の装置を使用した食品医薬品局/食品安全応用栄養センター（FDA/CFSAN）による従来型の方法と、1度の注入で分析が完了するアジレントの新しい方法から得た結果を比較すると、アジレントの高速分析では、現在FDA/CFSANが行っている合計分析時間の10分の1未満の時間ですべての対象化合物の測定が完了することが分かります。

はじめに

害虫、カビ、および雑草などを防ぎ、より多くの食料を供給するため、ほとんどの果物や野菜は農薬（殺虫剤、殺菌剤、除草剤など）の散布を受けています。そのため、食品の安全性を保証する目的で、食品中の残留農薬は常に監視されています。現在では、農薬の監視は食品だけでなく、植物性の栄養補助食品などにも拡大されています。

複数の微量残留物を監視（同定や定量）し、その効率を高めるには、効果的かつ応用範囲の広い抽出法と分析法が必要になります。これまで、一般的に感度と確認はトレードオフの関係にあると言われていました。炎光光度検出（FPD）、電子捕獲（ECD）、電解質伝導度（ELCD）、ハロゲン選択（XSD）などの元素選択型ガスクロマトグラフィ（GC）検出器は、選択性と感度は高いものの、同定を行うことができません。一方、マススペクトロメトリー（MS）は、フルスキャンライブラリ検索または選択イオンモニタリング（SIM）から得た複数のターゲットイオンとクォリファイアイオンの比に基づいて、対象化合物を同定できます。しかし、MSでは、妨害物と化学的なバックグラウンドが大きい複雑なマトリックスを対象とした場合、対象化合物を特定できるだけの選択性が得られないことがあります。対象化合物のスペクトルは、対象化合物の同定および確認を妨げるマトリックスの共抽出物に由来するよく似たイオンに埋もれてしまうことがあります。

それを補完する方法として、選択性の高いGC検出器を用いて考えられる対象化合物にフラグを設定し、MS SIMで結果を確認する、という方法が一般的に用いられています。例えば、多くのラボでは、有機ハロゲンについてはECDまたはELCD（またはXSD）、有機リン酸についてはパルスFPD（PFPD）、対象化合物を含む窒素についてはNPDを使用して、半揮発性農薬に関して食品サンプルをスクリーニングします[1－5]。検出された全対象化合物はGC/MS（SIM）でさらに確認されます。また、別の手順では、食品中の農薬のスクリーニング全体に関してGC/MS（SIM）が使用されてきました[6－8]。これらの手順の大部分では、ppb（10億分の1）の低いレベルの検出限界で数百の化合物を同定するため、複数回の注入が必要です。さまざまな農薬スクリーニングの効率と生産性を向上させるには、GC/MSの、あるいはGCとGC/MSを組み合わせた場合の、分析時間の短縮が必要です。

世界中で日常的に使用される農薬の種類は数百にのぼり、各国では農産物ごとに独自の農薬の許容基準を設定しています。これにより、複数の残留物の監視に関して別の課題が生まれます。それは、対象外の手順を開発し、さまざまな食品マトリックスで微量レベルの農薬を同定することです。

GC/MS、キャピラリ・フロー3ウェイスプリッタ、微量イオン検出、デコンボリューションレポート作成ソフトウェア（DRS）などのハードウェアおよびソフトウェアのツールを組み合わせることで、これらの分析を効率よく、精度よく行うことができます。スプリッタを使用すると、MSを含む複数の検出器にGCシグナルを送ることができ、生産性が向上します（注入回数が3から1に減るため）。微量イオン検出によってシグナルのノイズが最小になり、DRSによって分析対象イオンがマトリックスイオンから分離されます。

食品医薬品局/食品安全応用栄養センター（FDA/CFSAN）が現在使用している複数注入プロセスとアジレントの農薬分析システムを用い、数種類のサンプル抽出物を分析しました。DRSではクロマトグラフィ分離能に対する要求が最小限になり、システムの生産性が向上するため、3倍の速度（3分の1の分析時間）で分析を行いました。FDA/CFSANが現在おこなっている複数装置での分析方法と、アジレントのシングル注入方法の結果を比較すると、アジレントの高速分析では、すべての分析対象物を検出できるだけでなく、現在のFDA/CFSANの合計分析時間の10分の1未満で完了することが示されました。

実験

サンプル前処理

生鮮食品のサンプル抽出物は、FDAが定めるQuEChERSプロトコルの修正版により調製されました[9, 10]。

- 1～2kgのサンプルの均質化
- 均質化された15 gのサンプル+ 15mLの1% AcOH/ACN
- 6 g$MgSO_4$ および2.5 gのNaOAcの添加、1分間の激しい振とう、および遠心分離
- 15 mL + 0.5 g C-18 + 1.2 g $MgSO_4$の移行、振とう、および3,000rpmでの5分間の遠心分離
- 12 mL + 0.4 g PSA + 0.2 g GCB + 1.2 g $MgSO_4$の移行、ボルテックス
- 4mLのトルエンの添加、振とう、および遠心分離
- 6から8mLに移行、蒸発してトルエンを含む容量にして、I.S.を添加
- $MgSO_4$の添加、ボルテックスおよび遠心分離、ALSバイアルへの移行
- GCおよびGC/MS分析

乾燥したチョウセンニンジン粉のサンプル調製は、生鮮食品に類似していますが、サンプルサイズはより小さく（2g）なっています[11]。

キャピラリ・フロー3ウェイスプリッタ

キャピラリ・フロー・デバイスの1つに3ウェイスプリッタがあります。これは互いに接合（拡散接合）された2つのハーフプレートで構成されており、内部のエッチングされたフローチャンネルで1つのプレートを形成しています。スプリッタはわずか高さ6.5cm、幅3cmで、オーブンの壁に取り付けられています（図1参照）。低熱質量により、コールドスポットおよびピークの広がりが最小になります。すべてのキャピラリ・フロー・デバイスでは、金属性のカラムフェラルが使用されており、デッドボリュームが極めて低く、不活性で、多くのオーブンサイクルの後にも漏れがありません。

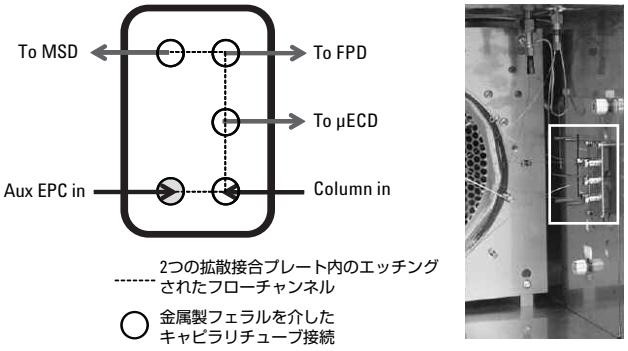


図1. 3ウェイスプリッタのフロー図。写真は、オーブンの壁に取り付けられているスプリッタを示しています。

3ウェイスプリッタでは、複数検出器に比例したカラム溶出を分流することで生産性を向上させます。ここでは、MSD、デュアル炎光光度検出器（DFPD）、およびマイクロ電子捕獲検出器（µECD）の3つの検出器にスプリットしています。したがって、2つのGC検出器のシグナルは、MSデータ（必要に応じて、SIMおよびスキャンシグナルの両方）と共に1回の注入から取り込むことができます。

分析カラムの出口を、金属製フェラルでスプリッタの4つのポートのうちの1つに取り付けます。他の3つのポートは、3台の検出器間でスプリット比を設定するため、直径および長さが違うリストリクタを介して3台の検出器に接続します。

リストリクタのサイズを、MSDおよびDFPD（µECDはMSDに対する流量の1/10）を優先して、同じ保持時間を持つ、1:1:0.1のスプリット比に調整します。スプリッタでは、圧力のメークアップ流量を一定にするため、補助（Aux）Electronic pneumatics control（EPC）を使用します。スプリッタでのメークアップガス（Aux圧力6）は、3.8psiに固定されており、分析を通じてこのスプリット比が維持されます。

このマルチシグナル構成により、複雑なマトリックスで高い選択性と感度を実現するための、ライブラリ検索のフルスキャンデータ、微量分析のSIMデータ、DFPD（リンまたは硫黄モード）、およびµECDデータが得られます。その代わり、流量のスプリッティングおよびスプリッタからさらに流れ込むメークアップガスにより、すべての検出器で対象化合物の濃度が減少していまいます。対象化合物は、3台のすべての検出器において同様の保持時間になります。よって、GCデータは2つの方法で使用できます。1つ目は、MSDデコンボリューションレポート作成ソフトウェア（DRS）によって検出された対象化合物が存在するかどうかの確認、2つ目は、MSDによって追加確認する可能性のある対象化合物のハイライトです。

新しい7890A GCソフトウェアを使用すると、最大6つのカラム/リストリクタを構成したり、異なるインレットおよびアウトレットに割り当てたりすることができます。Aux圧力は、インレット（別の検出器に接続するスプリッタフローリストリクタの場合）またはアウトレット（分析カラムの場合）のいずれかにすることができます。グラフィカルユーザインターフェースを使用すると、構成が設定しやすくなります。いったんすべてのカラムおよびリストリクタを構成すると、バックフラッシュを容易に実行できます。

バックフラッシュ

後半に溶出液を除去する従来の焼き出し手順は、長い時間のかかる場合はありました。マトリックスにもよりますが、分析時間程度に長くなることがあります。

バックフラッシュは簡単な方法ですが、低いカラム温度でカラムから高沸点溶剤を短時間で取り除き、分析時間を短縮するとともに、カラム寿命を延ばします。また、キャピラリ・フロー・デバイス（この場合は3ウェイスプリッタ）には、バックフラッシュ機能[13, 14]が備わっています。「バックフラッシュ」は、カラム内のサンプル化合物をカラムのインレット側から出す際に、溶液がカラム内を逆流することから付いた名称です。最後の対象化合物が溶出した後すぐにカラムの流れを反対向きにすると、保持力の高い化合物の長い焼き出し時間をなくすことができます。したがって、カラムブリードおよびゴーストピークが最小になり、カラムが長く使用できるようになり、MSイオンソースのメンテナンス頻度が減ります。スプリットベントトラップには、通常よりも頻度の高い交換が必要な場合があります。

図2および3は、MSDケミステーションソフトウェアの2つの画面で、バックフラッシュ操作の概要を示しています。図2では、1つのカラムおよび3つのリストリクタの寸法、およびそれぞれの検出器が示されています（セットアップはカラム構成セクションからです）。MSDの場合、ユーザはシステムに取り付けられた真空ポンプを選択できます。この情報は、バックフラッシュがシステムフローの制限値内である場合、計算に使用されます。[評価...]ボタンをクリックして、図3に示されている画面を表示し、各検出器の最大フロー、特定のバックフラッシュ時間のボイドボリュームのリストを示します。この例では、Aux圧力は60psi、インレット圧力は1psi、オーブンは280℃です。バックフラッシュフローが8.66mL/分、ボイド時間が0.16分であると示されています。したがって、2.5分のバックフラッシュでは15.6のボイドボリュームがカラムに送液されます。
これは、バックフラッシュ法の開発時に便利です。図2および図3は、バックフラッシュ法の設定および開発を単純化して示したものです。

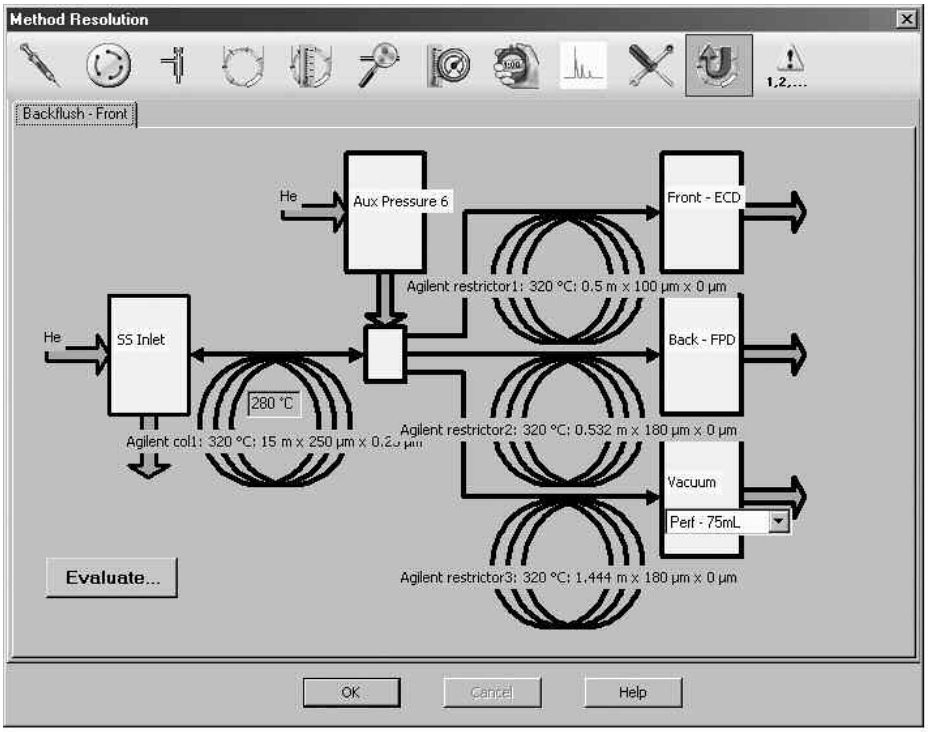


図2. ケミステーション内のバックフラッシュ設定。

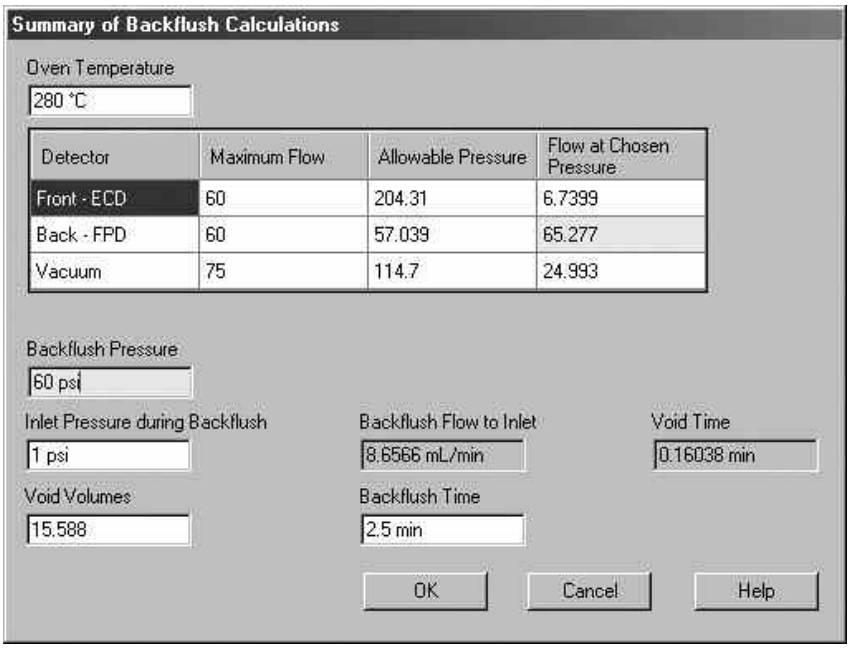


図3. ケミステーションでの自動化されたバックフラッシュ計算。

図3に示したもう1つの便利な機能は、黄色いセルで表示された「警告」です。この例では、バックフラッシュ圧を60psiに設定して、FPDに許容流量（60mL/分）を上回る送液を行います。したがって、バックフラッシュ圧設定およびFPDへの実際の流量値は「警告」として黄色で表示されます。システムでは設定を受け入れますが、高流量により、分析でフレームアウトなどの結果が生じる可能があります。

微量イオン検出

微量イオン検出[15]は、滑らかなピークを得るためのフィルタリングアルゴリズムです。このフィルタリングでは、高度な平均化法により、シグナルに重なったノイズを除去します。TIDからは通常、ピーク高さのわずかなロスと一部のピークの広がりが示されます。TIDケミステーションのデフォルト設定はオフです。デコンボリューションを使用する分析の場合、オンにする必要があり、1つのピークには6つを上回るサンプリングポイントが必要です。TIDによって、シグナル対ノイズ比が向上し、結果セクションに示すように、デコンボリューションが対象化合物を確認しやすくなります。

デコンボリューション

GC/MSのデコンボリューションは、数学的な手法で、重なり合うマススペクトルを各化合物についてデコンボリューションされたスペクトルに分解します。図4はこのプロセスを簡単に示した図です。ここで、トータルイオンクロマトグラム（TIC）および頂点スペクトルは左に示されています。複雑なマトリックスでは、ピークは複数の重なり合った成分およびマトリックスのバックグラウンドイオンで構成されている場合があります。そのため、頂点スペクトルは実際には、これらの成分を複合したものです。マススペクトルライブラリ検索は、最適な場所でもあまり一致しないので、もちろん複雑なスペクトルを構成しているすべての成分は同定されません。

デコンボリューションプロセスでは、各アバンダンスが1つのスペクトル内で一緒に増加して低下するイオンがグループ化されます。デコンボリューションプロセスでは最初、四重極マススペクトルで固有のスペクトルの歪みを補正し、各クロマトグラフィピークのより正確な頂点の保持時間を求めます。図4に示されているように、デコンボリューションでは、重なり合ったそれぞれの成分について「きれいな」スペクトルが生成されます。これらの各スペクトルは、よい一致を期待できるライブラリ検索を行うことができます。デコンボリューションは、クロマトグラフィ分解能の要件を大幅に削減し、解析時間を大幅に減らすことができます。

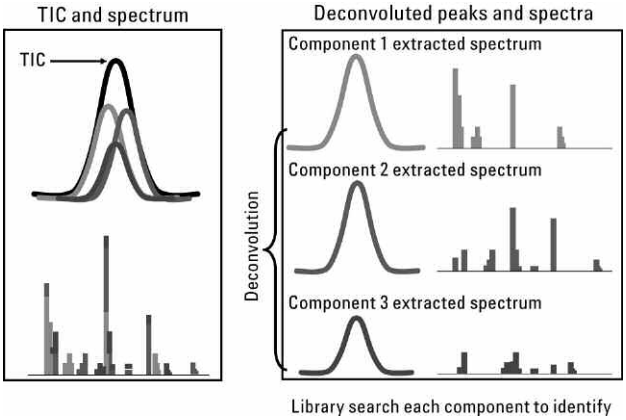


図4. 3つの重なり合ったピークのデコンボリューションプロセス。

Agilentデコンボリューションレポート作成ソフトウェア（DRS）では、本来は複雑なサンプルでの微量化学兵器検出用に開発された米国標準技術局（NIST）のAMDISデコンボリューションプログラムを使用できます[16]。DRSは、次の3つの個別の化合物の同定によって対象化合物が示されます。（1）ケミステーション、保持時間に基づく、4つのイオン一致、（2）AMDIS、「きれいなスペクトル」のフルスペクトル一致およびクォリファイアとして予測されるリテンションタイムウィンドウ、（3） 163,000を上回る成分ライブラリを使用したNIST05検索[17, 18]。このアプリケーションでは、ケミステーション定量化データベースとAMDISライブラリの両方に同じ926のエントリがあります。これらのエントリには、農薬、多数の代謝物、内分泌かく乱物質、重要なPCBおよびPAH、特定の染料、合成ジャコウ、および有機リン難燃剤が含まれています[18]。

NIST05ライブラリのCD-ROMに付属しているAMDISソフトウェアは、選択イオンモニタリング（SIM）データをデコンボリューションすることもできますが、以前のAMDISリビジョンはできませんでした[19]。テストは、適切な成分同定には1つの成分につき4つのイオンが必要であることを示しています。すべてのAgilent DRSデータベースは、リテンションタイムでロックされており、AMDISのフルスキャンおよびSIMライブラリの両方を備えています。

装置メソッド

この研究で使用したシステムは、スプリット/スプリットレスインレット付きのAgilent 7890A GC、3ウェイスプリッタ、μECD、DFPD、および5975 MSDで構成されています。SIM/スキャンおよびスプリッタシステムの構成に関する詳細な説明については、参考文献の実験セクションを参照してください[12]。ハードウェアの詳細および設定については、表1を参照してください。

表 1. ガスクロマトグラフ、質量分析計、および3ウェイスプリッタの操作パラメータ

GC	Agilent 7890A 240V高速オーブンのオプション付き
インジェクタ	Agilent 7683
シリンジサイズ	10µL
注入量	1µL
溶媒A洗浄	1（プレ）、3（ポスト）
溶媒B洗浄	1（プレ）、3（ポスト）
サンプル洗浄	0
サンプルポンプ	4
プランジャ速度	高速
インレット	EPCスプリット/スプリットレス
モード	スプリットレス
インレット温度	250°C
圧力	~24.4psi（クロルピリホスメチルRTでロック、5.531分、3倍の速度）一定圧力モード
パージ流量	50.0mL/min
パージ時間	2分
セプタムパージ流量	3mL/min
セプタムパージモード	スイッチ
ガスセーバ	オフ
ガスの種類	ヘリウム
ライナ	ヘリックスダブルテーパライナ、オフ 部品番号5188-5398

オーブン

オーブンランプ	°C/min	最終（°C）	保持時間（分）
初期		70	0.67
ランプ1	75	150	0
ランプ2	9	200	0
ランプ3	24	280	3.33

分析時間	13.96分
オーブン平衡化時間	1.0分
分析後時間	2.5分
分析後温度	280°C
カラム	Agilent HP-5MS、部品番号19091S-431
長さ	15.0m
直径	0.25mm
フィルム厚さ	0.25µm
モード	一定圧力 クロルピリホスメチルに対してRTでロック 5.531分、3倍の分析速度
公称初期流量	3.5mL/min
アウトレット	Aux圧力6
出口圧	3.8psi（Aux EPC圧力、3ウェイスプリッタ）、ヘリウムガス

バックフラッシュ（分析後）

オーブン	280°C
時間	2.5分
入口	1psi
Aux圧力6	60psi（カラム出口）
フロント検出器	µECD
温度	300°C
定流量カラム+メークアップ	60.0mL/min
メークアップガスの種類	窒素
データレート	20Hz
背面の検出器	デュアルFPD
温度	250°C
水素流量	75.0mL/min
空気流量	100.0mL/min
定流量カラム+メークアップ	60.0mL/min
メークアップガスの種類	窒素
点火オフセット	2.00
データレート	20Hz
トランスファライン	250°C
AUXサーマル1	MSDトランスファライン、280°C
AUX圧力6	3ウェイスプリッタ
ガスの種類	ヘリウム
初期圧力	3.8psi
バックフラッシュ圧	60psi
MSD	Agilent 5975C MSD
チューンファイル	Atune.u
モード	スキャン
溶媒待ち時間	1.50分
EM圧	オートチューン電圧
低質量	50amu
高質量	550amu
リミット値	0
サンプル	2
スキャン数/秒	2.91
四重極温度	150°C
ソース温度	230°C
3ウェイスプリッタ	Agilent 7890A オプション890、 工場組立時に設置
圧力	3.8psi（Aux圧力6設定）
スプリット比	1:1:0.1 MSD:DFPD:µECD
MSDリストリクタ	1.444m×0.18-mm（内径）不活性化処理フューズドシリカチューブ、 部品番号160-2615-10
DPFDリストリクタ	0.532m×0.18-mm（内径）不活性化処理フューズドシリカチューブ、 部品番号160-2615-10
µECDリストリクタ	0.507m×0.10-mm（内径）不活性化処理フューズドシリカチューブ、 部品番号160-2635-1
MSDへの流量	3.43mL/min（70°C）、 1.53mL/min（280°C）
DFPDへの流量	3.43mL/min（70°C）、 1.53mL/min（280°C）
µECDへの流量	3.43mL/min（70°C）、 0.153mL/min（280°C）
メークアップ（Aux 6）	3.19mL/min（70°C）、 1.52mL/min（280°C）

ソフトウェア

GC/MSDケミステーション	G1701EA（バージョンE.01.00以上）
MSライブラリ	NIST05aマススペクトルライブラリ（G1033A）Agilent RTL農薬および環境ホルモンライブラリ（926エントリ）、AgilentおよびAMDIS形式（G1672AA）
デコンボリューションソフトウェア	自動マススペクトルデコンボリューションおよび同定ソフトウェア（AMDIS_32バージョン2.65ビルド116.66）
ライブラリ検索ソフトウェア	NIST MS検索（バージョン2.0d以上）（NIST'05aマススペクトルライブラリG1033A）
デコンボリューションレポート作成ソフトウェア	G1716AA（バージョンA.03.00以上）

結果および考察

バックフラッシュの例

バックフラッシュ時間をさまざまに変えて分離した牛乳の分析後のブランクランを図5に示します。1番上のTICは、牛乳抽出分析が42分で終了し、システムが1分間バックフラッシュした後のブランクランです。次のTICは、別の牛乳抽出物分析が42分で終了し、2分間バックフラッシュした後のブランクランです。残りの5つのTICについても同様です。最後の溶出液がバックフラッシュの初期にTICから消えたことが図5から分かります。

微量イオン検出

図6は、TIDがオンとオフのときのシグナルを比較したものです。TIDによってシグナル最上部のノイズが滑らかになっているのが良く分かります。TIDをオンにした場合には、AMDISでアトラジンの同定に成功しました。TIDをオフにした場合には、AMDISでアトラジンは同定されず、偽陰性となります。図7では、同じチョウセンニンジンの抽出物に関する2つの異なる分析条件について、TIDのオンとオフを比較しています。右は、3倍の高速分析で、TIDをオンにした1µLスプリットレス注入です。対象化合物のダイアジノンは、ピーク幅が5秒未満の状態でAMDISによって検出されました。左は、通常の分

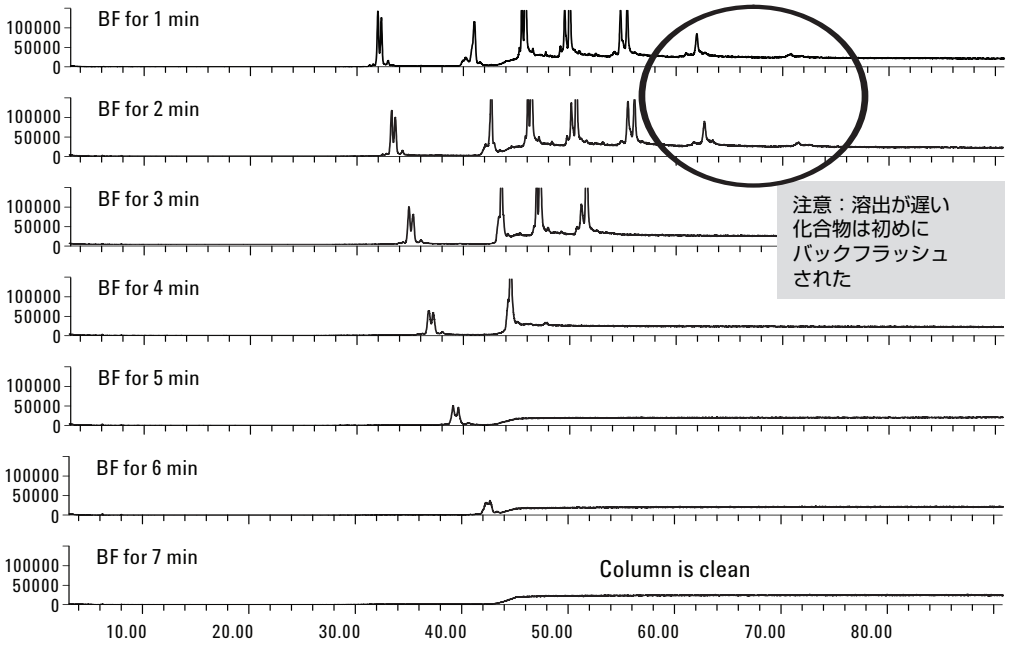
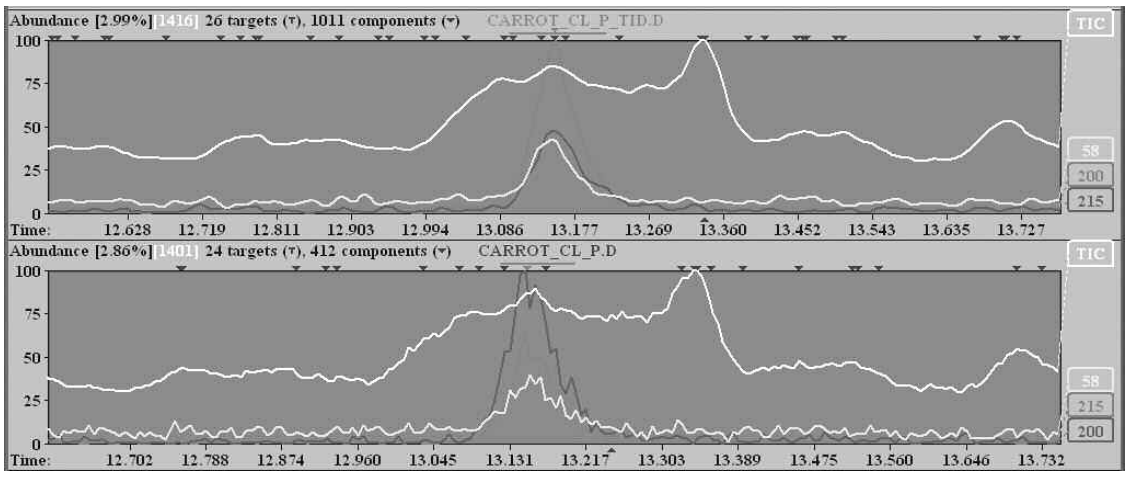


図5.　異なる7つのバックフラッシュ時間によるブランクランの差。

AMDISによって検出されたアトラジン



TIDオン

TIDオフ

アトラジンはAMDISによって検出されない

図6.　AMDISでのアトラジンのTIDによるデコンボリューション性能。

析（1倍）で、TIDをオフにしてPTVを使用した5µLコールドスプリットレス注入です。9秒の幅のダイアジノンはAMDISで検出されず、偽陰性となってしまいます。両方の例は、TIDが微量対象化合物の分析に関して非常に有効な機能であることを示しています。

TIDの利点は以下のとおりです。

- シグナル対ノイズ比の改善
- AMDISにより同定できる化合物が増え、その結果偽陽性が減ること
- ライブラリ検索品質の向上
- 面積再現性の向上による、信頼性の高い定量

DRSおよびスプリッタ

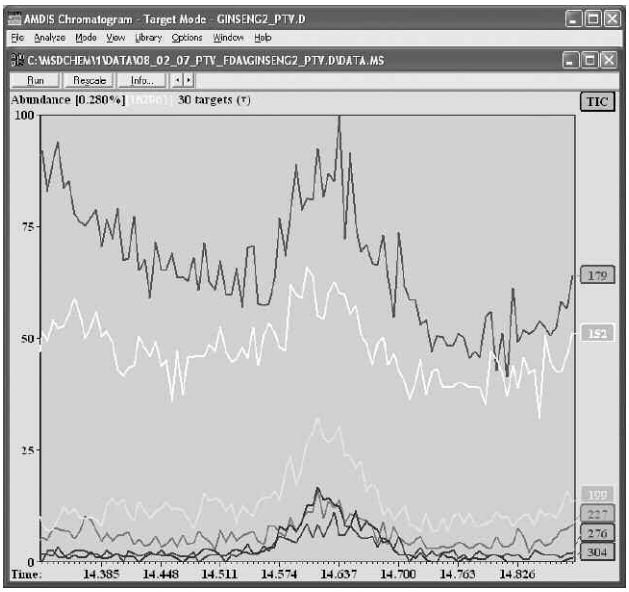
図8および9は、対象となる農薬が使用されているチョウセンニンジンとモモの抽出物に関するDRSのレポートです（レポートの詳細な説明については、参考文献[17]および[20]を参照してください）。図10および11は、3ウェイスプリッタからの該当するチョウセンニンジンとモモの抽出物に関して同時に収集されたGCおよびMSシグナルを示しています。µECDおよびFPD（P）からのGCピークの存在によって、DRSがレポートする対象化合物の確認が容易になります。各分析は、3倍の速度および240Vのオーブンを使用して15分で完了しています。デコンボリューションの化合物の同定では、低いピークの分解能が必要です。カラムが清浄であることを保証し、すべてのピークに関して次の分析のロックされたRTを維持するため、分析後に4分のバックフラッシュを追加します。

デコンボリューション

図12～15は、AMDISの結果を示しています。AMDISで検出される各対象化合物については、3つのスペクトルがあります。上のウィンドウには、TICのスペクトル（スキャン）が示されています。これは、ライブラリ検索に用いることができるスペクトル（デコンボリューションなし）ですが、明らかに使用することはできません。中央のウィンドウには、デコンボリューションされたスペクトルが示されており、下のウィンドウはライブラリ内の対象化合物のスペクトルです。信頼性の高い化合物の確認は、下の2つのスペクトルを比較することにより、容易に行えます。デコンボリューションの性能は、上の2つのスペクトルを比較する限りは、高く評価されます。

デコンボリューションで検出されたものを、さらに確認することも容易です。図9では、AMDISによってモモの抽出物から検出された4種類の農薬には、約80以下の一致ファクタがあります。4種類の農薬とは、カルバリル、キャプタン、プロピコナゾール、およびフェンブコナゾールです。これらの化合物のSIMメソッドは、モモの抽出物を分析するように設定されました。適切なAMDISライブラリ（フルスキャンまたはSIM）を選択すると、DRSはSIMデータファイルと同様にフルスキャンを処理できます[19]。
図16は、モモのSIM分析のDRSレポートです。AMDISで検出されたすべての対象化合物の小さなRT差および高い一致ファクタ（99以上）によって、すべての化合物の存在が確認されます。

PTV、1倍の速度、5µL注入
TIDなし、ダイアジノン未検出（偽陰性）



スプリットレス、3倍の速度、1µL注入、
TID使用、ダイアジノン検出

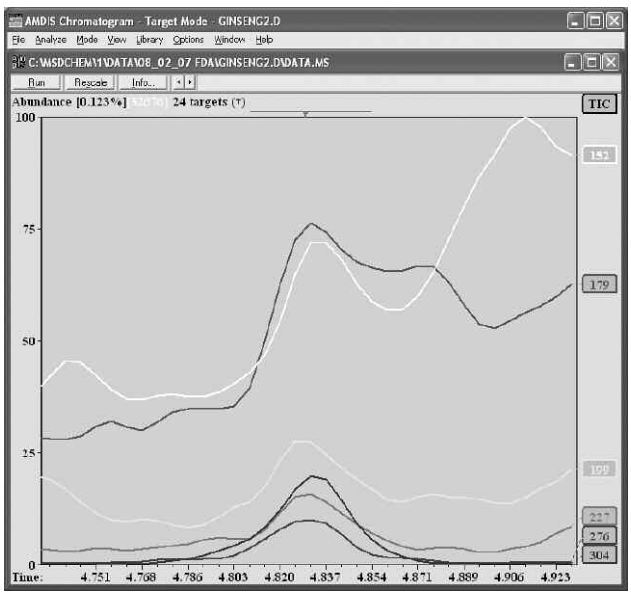


図7. ダイアジノンのTIDによるデコンボリューション性能。

			Agilent	AMDIS		NIST	
R.T.	Cas #	Compound Name	ChemStation Amount (ng)	Match	R.T. Diff sec.	Reverse Match	Hit Num.
2.1437	3228033	Promecarb artifact [5-isopropyl-3-methylphenol]		68	6.1		
2.1437	1450722	Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-				89	1
2.2759	97530	Eugenol		78	2.7	80	2
3.5107	877098	2,4,5,6-Tetrachloro-m-xylene	2.02	93	3.5	80	2
3.6664	126738	Tributyl phosphate		81	5.2	86	2
4.6128	120127	Anthracene		81	-12.2	91	8
4.8290	333415	Diazinon		69	1.3	72	2
5.3286	84695	Diisobutyl phthalate		91	5.3	88	6
6.1577	84742	Di-n-butylphthalate		94	3.4	91	3
6.4993	1861321	Chlorthal-dimethyl	0.22	88	3.9	79	3
9.3157	115866	Triphenyl phosphate		78	13.8	92	2
9.9290	117817	Bis(2-ethylhexyl)phthalate		82	8.9	79	6
9.931	84617	Dicyclohexyl phthalate	7.12				
11.2520	84764	Di-n-nonyl phthalate		72	-11.6	80	1
12.2997	131860338	Azoxystrobin		77	17.1	61	4

図8.　チョウセンニンジンのDRSレポート（農薬はハイライト）。

			Agilent	AMDIS		NIST	
R.T.	Cas #	Compound Name	ChemStation Amount (ng)	Match	R.T. Diff sec.	Reverse Match	Hit Num.
1.823	91203	Naphthalene	0.05				
2.2748	97530	Eugenol		78	2.5	76	3
3.3036	86737	Fluorene		76	0.5	89	5
3.3242	84662	Diethyl phthalate		89	1.4	89	2
3.5084	877098	2,4,5,6-Tetrachloro-m-xylene	0.36	98	3.1	87	2
3.6423	126738	Tributyl phosphate	1.3	90	0.9	87	2
5.3160	84695	Diisobutyl phthalate	2	99	3.1	92	2
5.6130	63252	Carbaryl		81	1.8	84	7
6.1423	84742	Di-n-butylphthalate		97	0.6	92	2
7.0835	133062	Captan		83	1.5	75	2
7.5430	959988	Endosulfan (alpha isomer)		91	-0.3	80	3
8.0082	80057	Bisphenol A		80	11.8	76	4
9.0198	85687	Butyl benzyl phthalate		80	3.5	76	3
9.0713	60207901	Propiconazole-I		76	16.8	72	2
9.5285	732116	Phosmet		96	5.4	85	2
10.7788	119611006	Fenbuconazole		76	6.9		
10.7788	0000	Piperazine-2,5-dione, 3-hydroxy-6-isopropyl-3-trifluoromethyl-				59	1

図9.　モモのDRSレポート（農薬はハイライト）。

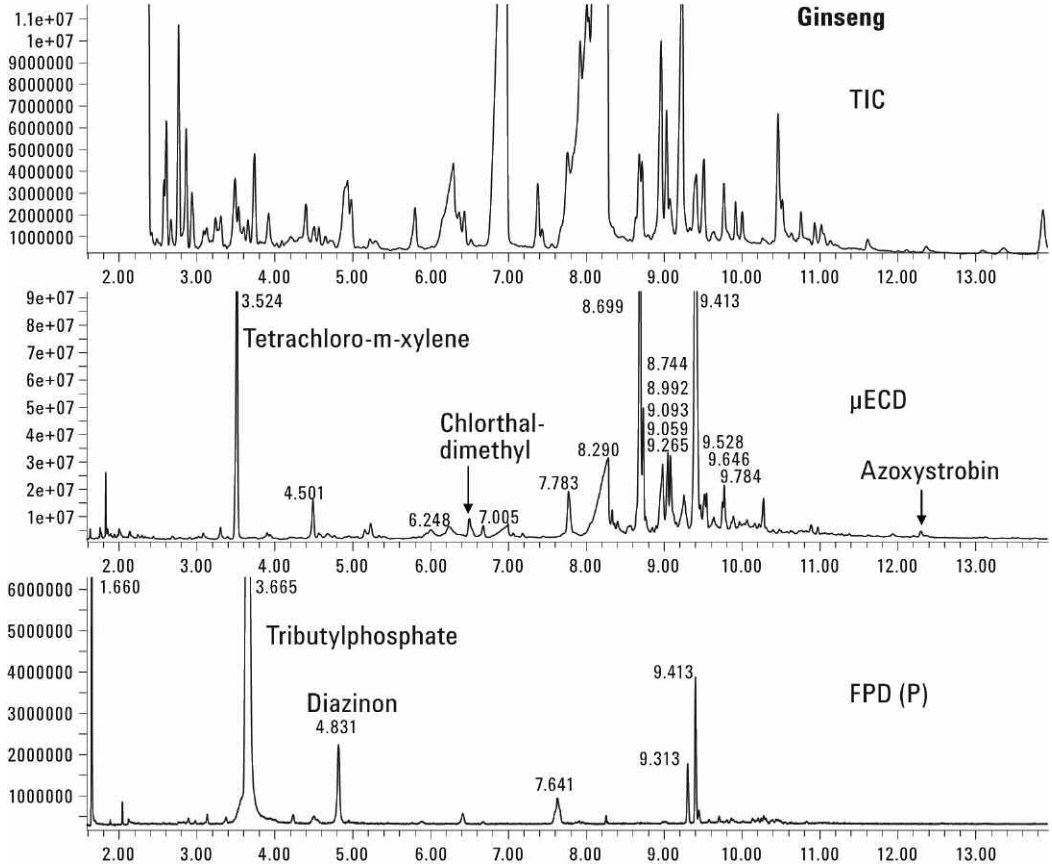


図10. チョウセンニンジンに関するMSDおよびGC選択型検出器のシグナルの同時表示。

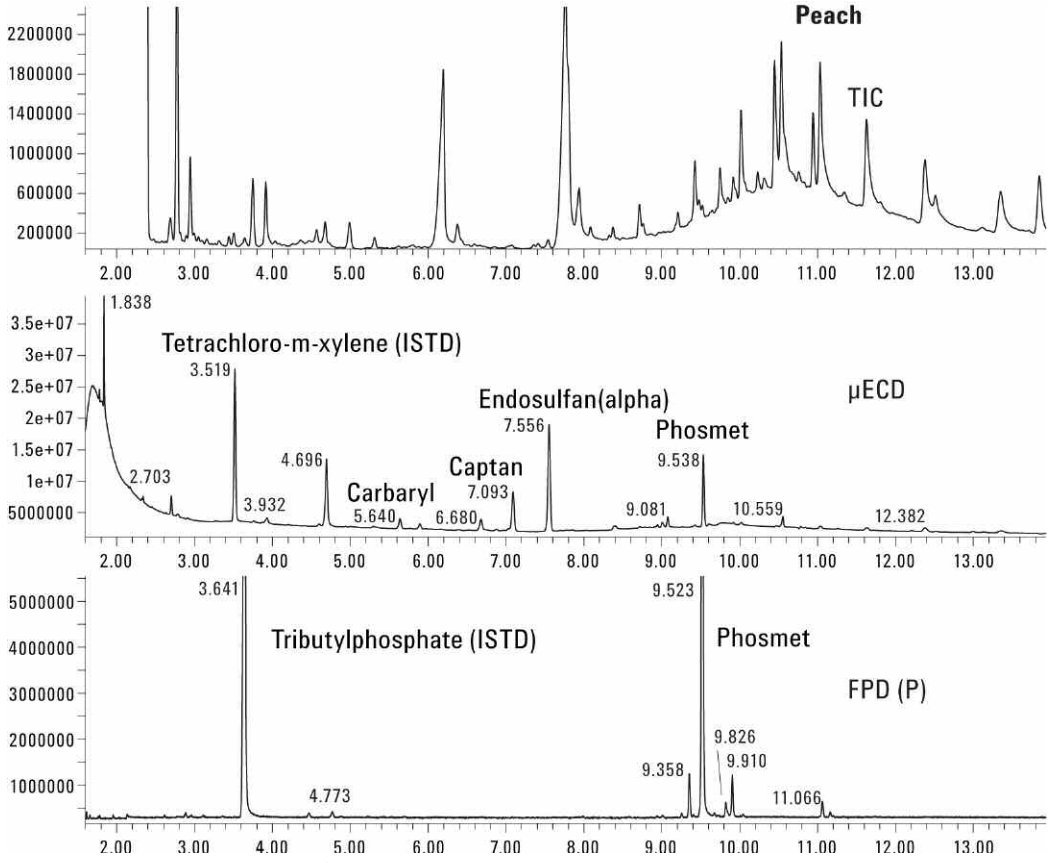


図11. モモに関するMSDおよびGC選択型検出器のシグナルの同時表示。

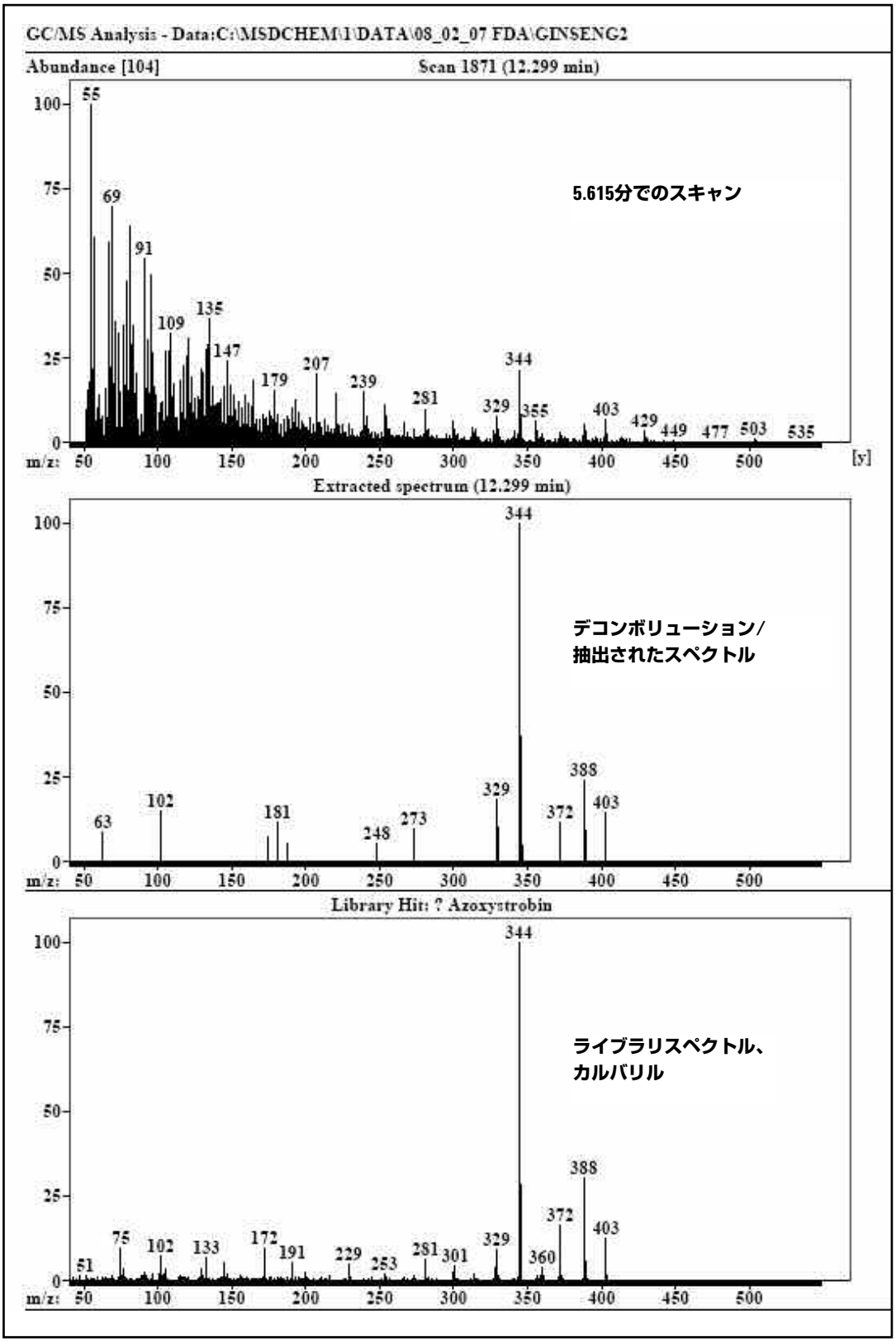


図 12.　AMDISで、チョウセンニンジンから検出されたアゾキシストロビンの生の（汚れた）スペクトル、デコンボリューションされた（クリーンな）スペクトル、およびライブラリのスペクトル。

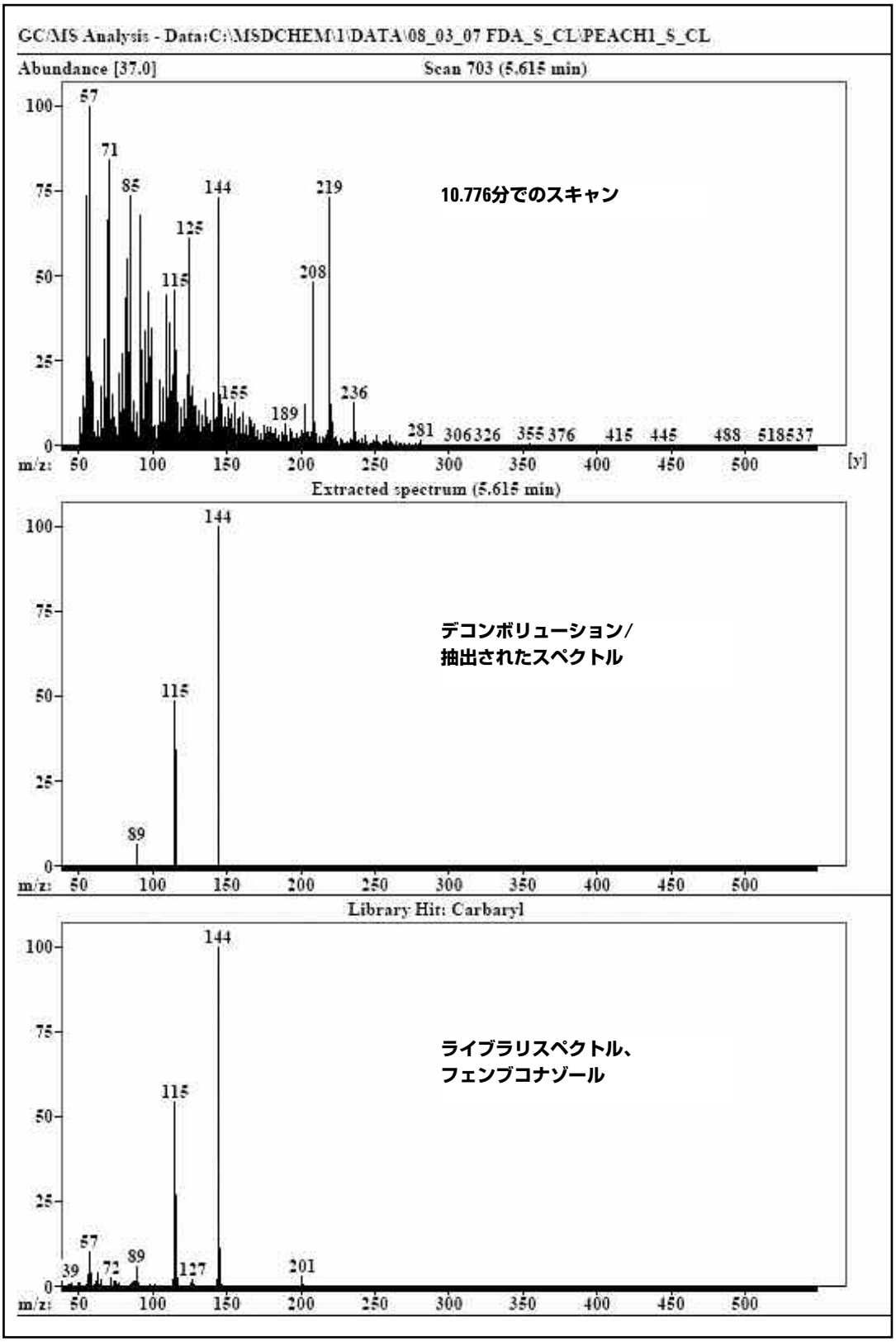


図 13. AMDISで、モモから検出されたカルバリルの生の(汚い)スペクトル、デコンボリューションされた(クリーンな)スペクトル、およびライブラリのスペクトル。

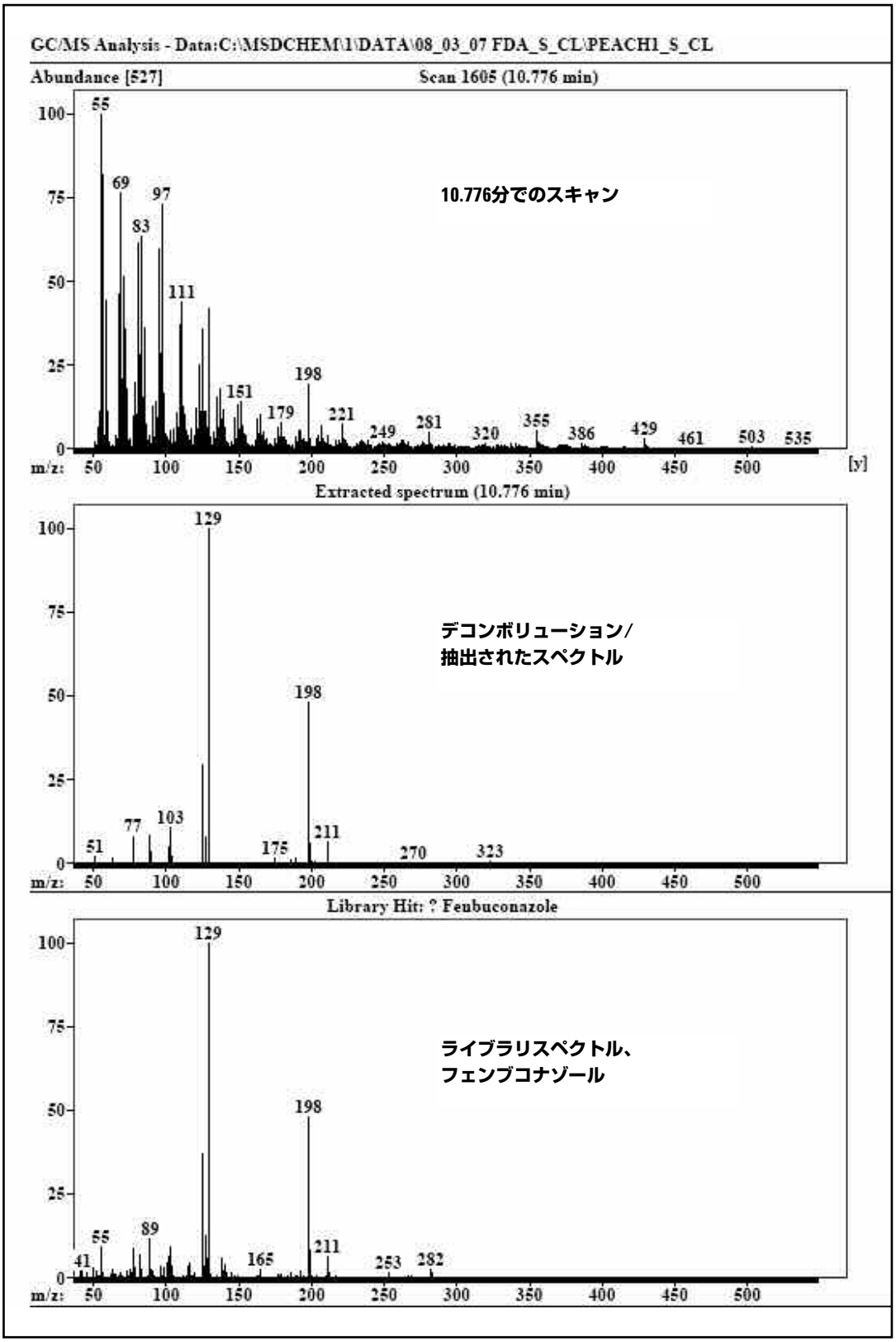


図14. AMDISで、モモから検出されたフェンブコナゾールの生の（汚い）スペクトル、デコンボリューションされた（クリーンな）スペクトル、およびライブラリのスペクトル。

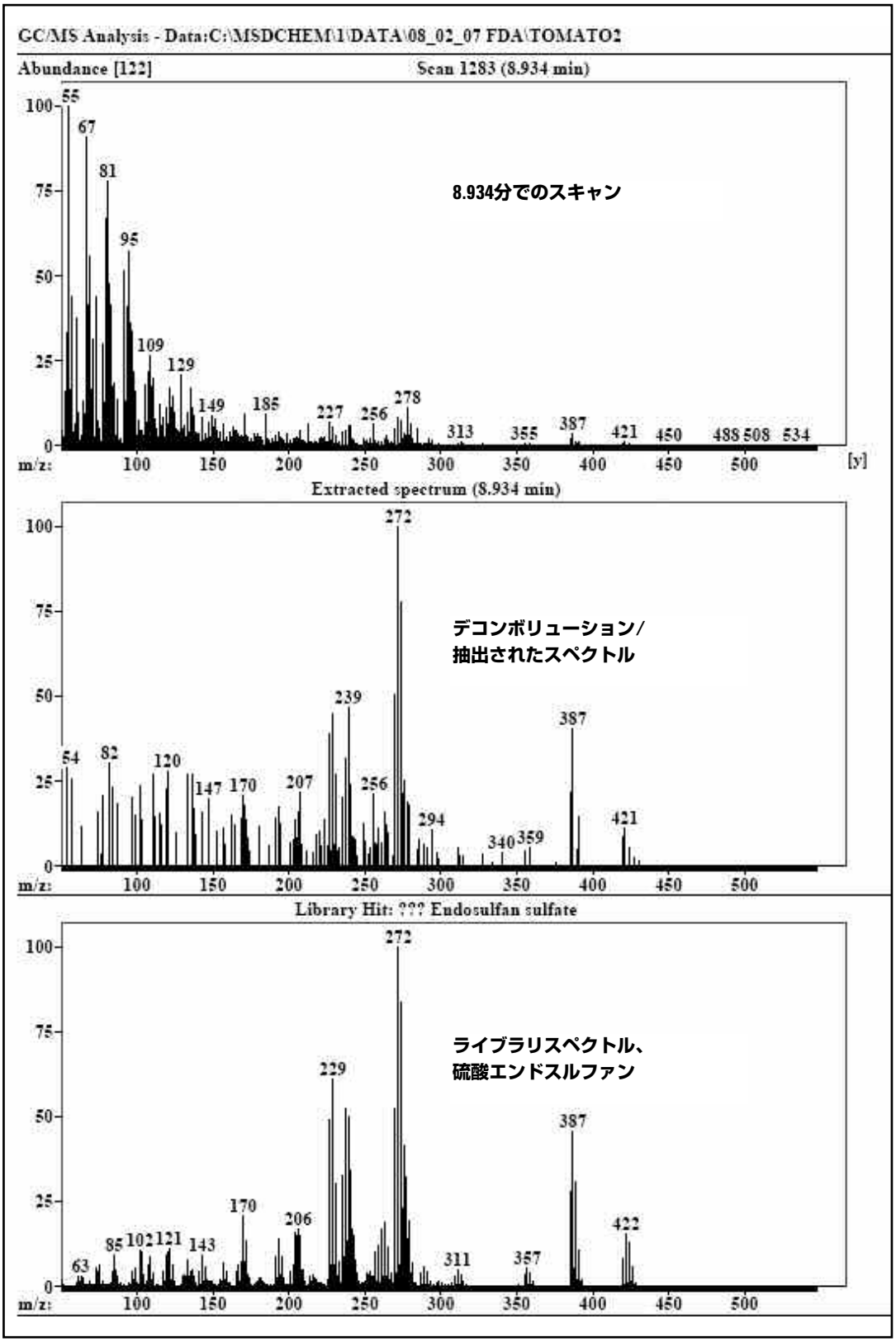
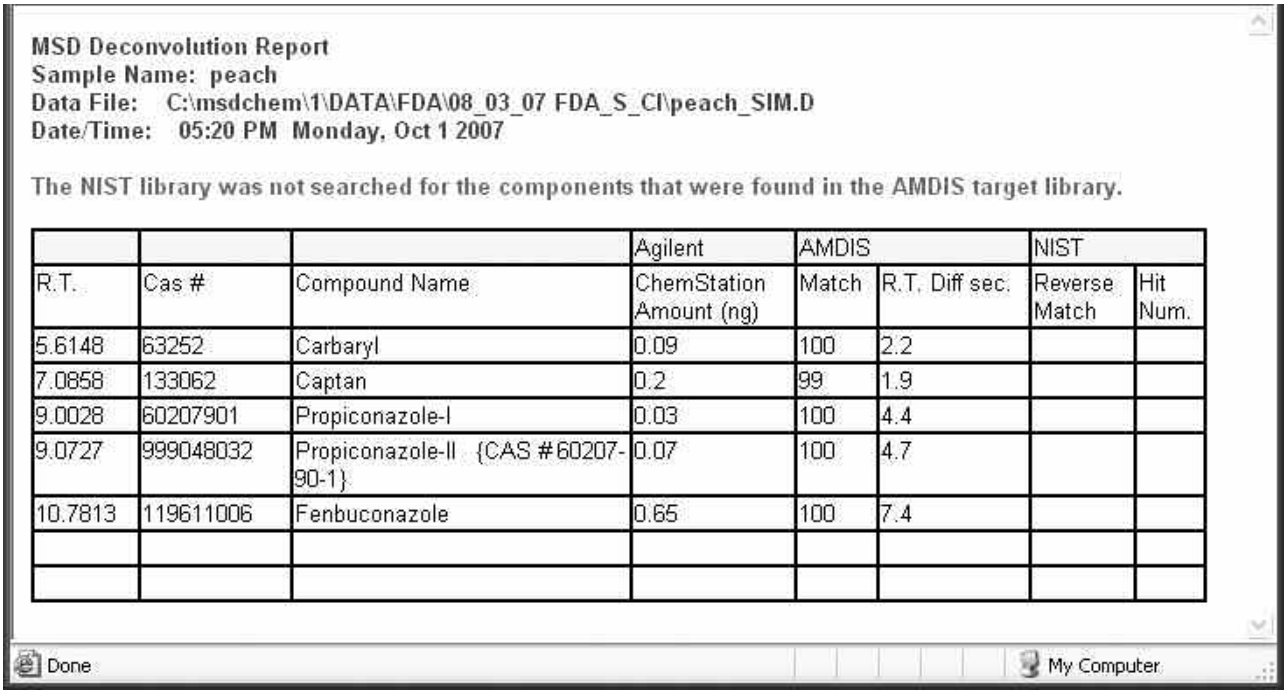


図15. AMDISで、トマトから検出された硫酸エンドスルファンの生の(汚い)スペクトル、デコンボリューションされた(クリーンな)スペクトル、およびライブラリのスペクトル。



MSD Deconvolution Report
Sample Name: peach
Data File: C:\msdchem\1\DATA\FDA\08_03_07 FDA_S_Cl\peach_SIM.D
Date/Time: 05:20 PM Monday, Oct 1 2007

The NIST library was not searched for the components that were found in the AMDIS target library.

			Agilent	AMDIS		NIST	
R.T.	Cas #	Compound Name	ChemStation Amount (ng)	Match	R.T. Diff sec.	Reverse Match	Hit Num.
5.6148	63252	Carbaryl	0.09	100	2.2		
7.0858	133062	Captan	0.2	99	1.9		
9.0028	60207901	Propiconazole-I	0.03	100	4.4		
9.0727	999048032	Propiconazole-II {CAS #60207-90-1}	0.07	100	4.7		
10.7813	119611006	Fenbuconazole	0.65	100	7.4		

Done My Computer

図16は、モモのSIM分析のDRSレポートです。プロピコナゾール-IIに割り当てられている仮のCAS番号の説明については、参考文献18を参照してください(999048032)。

生成されたサンプルの比較

FDA/CFSANが現在用いているアプローチは、広範囲の有機ハロゲン系農薬および有機リン酸系農薬の残留物を検出するためのものです。これには、各回が約50分かかる注入(有機ハロゲンについてはGC/MS(SIM)およびGC-ELCD、有機リン酸についてはGC/MS(SIM)およびGC-FPDのスクリーニング)が4回必要になります(合計分析時間= 200分)。表2から、FDAがGCおよびMSの両方からの定量結果と共に、3つの抽出物から数種類の対象化合物を検出したことが分かります。

比較すると、新しいツール(スプリッタ、TID、デコンボリューション)を用いた場合、1度の短いフルスキャン分析から、FDA/CFSANよりさらに多くの対象化合物が検出されています。

3ウェイスプリッタは、確認を目的として、選択GCシグナル(μECDおよびFPD)を得るために使用されました。3つの検出器(1:1:0.1)に対するカラム溶出スプリッティングのため、MSDでは、半分を下回る注入量です。有機ハロゲン監視のためのFDA/CFSAN GCおよびGC/MS/SIM分析では、トマトから14/21ppb(pg/μL)の硫酸エンドスルファンが検出されまし

表2. Agilent農薬システム及びFDAの結果の比較

	Agilent DRS (フルスキャン/TID)	FDA (FPD、ELCD、SIM)	GC-FPDまたはELCD	GC/MS (SIM)
チョウセンニンジン	ダイアジノン クロルタールジメチル アゾキシストロビン	ダイアジノン(FPD、SIM)	25 ± 3 ppb	25 ± 2 ppb
モモ	カルバリル キャプタン エンドスルファン(アルファ) ホスメット プロピコナゾールIおよびII フェンブコナゾール	ホスメット(FPD、SIM)	320 ± 37	230 ± 23
トマト	クロロタロニル エンドスルファン(アルファ) エンドスルファン(ベータ) 硫酸エンドスルファン	クロロタロニル(ELCD, SIM) エンドスルファン(アルファ)(ELCD, SIM) エンドスルファン(ベータ)(ELCD, SIM) 硫酸エンドスルファン(ELCD, SIM)	205 ± 10 16 ± 2 34 ± 4 14 ± 2	153 ± 47 26 ± 4 47 ± 5 21 ± 6

1 15分注入(スプリッタ)、これらを検出

2 50分注入、これらを検出

FDA定量結果

た。また、Agilent MSD/DRSは、スプリットのため、MSDで使用できるFDA/CFSANによってレポートされた半分未満の量でこの化合物をフルスキャンモードで検出しました。

モモのカルバリル（$C_{12}H_{11}NO_2$）、チョウセンニンジンのアゾキシストロビン（$C_{22}H_{17}N3O_5$）といった低ppb濃度でハロゲンや有機リンの部分構造を含まない他のいくつかの対象化合物が、DRSで同定されました。有機ハロゲン系および有機リン酸系農薬検出のためにFDA/CFSANが用いている2つの手順では、これらの窒素含有農薬をまったく検出できませんでした。これは、TIDで得たデータのデコンボリューションでは、フルスキャンモードならカラム中に10pg未満しか存在しない化合物でも同定できることを意味します。

結論

微量レベルの農薬残留物分析におけるトレードオフは、感度と確認です。よって、元素選択型GC検出を抽出物のスクリーニングに用い、検出物をMS/SIMで確認するという方法が一般に用いられています。このため、サンプル抽出物で完全な残留物分析を行うには、4回の注入を行う可能性があります。

最近になって導入された、キャピラリ・フロー3ウェイスプリッタ、微量イオン検出、デコンボリューションレポート作成ソフトウェア（DRS）といったハードウェアやソフトウェアには、微量農薬残留物分析の生産性を飛躍的に向上させる可能性があります。デコンボリューションでは高いクロマトグラフィ分離能が要求されず、アジレントのシステムは3倍の速度（3分の1の分析時間）で分析を行って、生産性を向上させます。ここで紹介した注入を1度しか行わない方法は、3倍の高い速度であっても、注入を3回行う従来の方法にとって代わることが可能です。

現在のFDA/CFSANの複数装置の手法および新しいアジレントのシングル注入の手法からの結果を比較する表には、アジレントの高速分析では、すべての分析対象物を検出できるだけでなく、現在のFDA/CFSANの合計分析時間の10分の1未満で完了することが示されています。

参考文献

1. S. M. Lee, M. L. Papathakis, H. C. Feng, G. F. Hunter, and J. E. Carr, “Multipesticide Residue Method for Fruits and Vegetables: California Department of Food and Agriculture,”
   Fresenius J. Anal. Chem, 1991, 339, 376–383
2. J. Cook, M. P. Beckett, B. Reliford, W. Hammack, and M. Engel, “Multiresidue Analysis of Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables Using Procedures Developed by the Florida Department of Agriculture and Consumer Services,”
   J. AOAC Int, 1999, 82, 1419–1435
3. G. E. Mercer, “Determination of 112 Halogenated Pesticides Using Gas Chromatography/ Mass Spectrometry with Selected Ion Monitoring,” J. AOAC Int, 2005, 88, 1452–1462
4. G. E. Mercer and J. A. Hurlbut, “A Multiresidue Pesticide Monitoring Procedure Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Selected Ion Monitoring for the Determination of Pesticides Containing Nitrogen, Sulfur, and/or Oxygen in Fruits and Vegetables,” J. AOAC Int, 2004, 87, 1224–1236
5. USDA Pesticide Data Program Analytical Methods: http://www.ams.usda.gov/science/pdp/Methods.htm
6. J. Fillion, R. Hindle, M. Lacroix, and J. Selwyn, “Multiresidue Determination of Pesticides in Fruit and Vegetables by Gas Chromatography-Mass-Selective Detection and Liquid Chromatography with Fluorescence Detection,”
   J AOAC Int, 1995, 78, 1252–1266
7. S. Nemoto, K. Sasaki, S. Eto, L. Saito, H. Sakai, T. Takahashi, Y. Tonogai, T. Nagayama, S. Hori, Y. Maekawa, and M. Toyoda, “Multiresidue Determination of 110 Pesticides in Agricultural Products by GC/MS（SIM）,” J. Food Hyg. Soc, Japan, 2000, 41, 233–241
8. G. F. Pang, C. L. Fan, Y. M. Liu, Y. Z. Cao, J. J. Zhang, X. M. Li, Z. Y. Li, Y. P. Wu, and T. T. Guo, “Determination of Residues of 446 Pesticides in Fruits and Vegetables by Three-Cartridge Solid-Phase Extraction Gas Chromatography-Mass Spectrometry and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry,” J. AOAC Int, 2006, 89, 740–771
9. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, and F. J. Schenck, “Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and ‘Dispersive Solid-Phase Extraction’ for the Determination of Pesticide Residues in Produce,” 2003, J. AOAC Int, 86:412–431

10. S. J. Lehotay, K. Maπtovská, and A.R. Lightfield, “Use of Buffering and Other Means to Improve Results of Problematic Pesticides in a Fast and Easy Method for Residue Analysis of Fruits and Vegetables,” 2005, J. AOAC Int, 88:615–629

11. J. W. Wong, M. K. Hennessy, D. G. Hayward, A. J. Krynitsky, I. Cassias, and F. J. Schenck, “Analysis of Organophosphorus Pesticides in Dried Ground Ginseng Root by Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry and -Flame Photometric Detection,” J. Agric. Food Chem, 2007, 55, 1117–1128

12. Chin-Kai Meng and Bruce Quimby, “Identifying Pesticides with Full Scan, SIM, µECD, and FPD from a Single Injection,” Agilent Technologies publication, 5989-3299, July 2005

13. Chin-Kai Meng, “Improving Productivity and Extending Column Life with Backflush,” Agilent Technologies publication, 5989-6018EN, December 2006

14. Matthew Klee, “Simplified Backflush Using Agilent 6890 GC Post Run Command,” Agilent Technologies publication, 5989-5111EN, June 2006

15. Randy Roushall and Harry Prest, “The 5975C Series MSDs: Method Optimization and Trace Ion Detection,” Agilent Technologies publication, 5989-6425EN, March 2007

16. http://chemdata.nist.gov/mass-spc/amdis/explain.html

17. Philip L. Wylie, Michael J. Szelewski, Chin-Kai Meng, and Christopher P. Sandy, “Comprehensive Pesticide Screening by GC/MSD Using Deconvolution Reporting Software,” Agilent Technologies publication, 5989-1157EN, May 2004

18. Philip L. Wylie, “Screening for 926 Pesticides and Endocrine Disruptors by GC/MS with Deconvolution Reporting Software and a New Pesticide Library,” Agilent Technologies publication, 5989-5076EN, April 2006

19. Mike Szelewski and Chin-Kai Meng, “New Features of Deconvolution Reporting Software Revision A.02,” Agilent Technologies publication, 5989-4159EN, November 2005

20. Bruce Quimby and Mike Szelewski, “Screening for Hazardous Chemicals in Homeland Security and Environmental Samples Using a GC/MS/ ECD/FPD with a 731 Compound DRS Database,” Agilent Technologies publication, 5989-4834EN, February 2006

謝辞

本研究で使用したサンプル抽出物および結果、このアプリケーションに関する貴重なご意見をいただきました、Jon Wong氏（FDA/CFSAN）に謝意を表します。

詳細情報

当社の製品およびサービスの詳細情報については、当社のホームページwww.agilent.com/chem/jpをご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。
また、本文書掲載の機器類は薬事法に基づく登録を行っておりません。

本書に記載されている情報、説明、および仕様は予告なく変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2007

Printed in Japan
December 18, 2007
5989-7670JAJP

Agilent Technologies